

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

Stability of ascorbic acid, carotenoids and anthocyanins in acerola fruits frozen by cryogenic methods

Autores | Authors

✉ **Ana Carolina Moura de Sena AQUINO**

Universidade Federal de Sergipe (UFS)
Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (NUCTA)
Rod. Amaro Antônio Vieira, 2463, Bloco B
Apt. 403, Itacorubi
CEP: 88034-102
Florianópolis/SC - Brasil
e-mail: carolsena@ig.com.br

Raisa Soares MÓES

Universidade Federal de Sergipe (UFS)
Núcleo de Graduação em Engenharia de Alimentos (NEAL)
e-mail: raisa.moes@hotmail.com

Alessandra Almeida CASTRO

Universidade Federal de Sergipe (UFS)
Núcleo de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (NUCTA)
e-mail: alessandra@ufs.br

✉ Autor Correspondente | Corresponding Author

Recebido | Received: 06/11/2009

Aprovado | Approved: 22/03/2011

Resumo

Quando se deseja manter a qualidade original do fruto, o congelamento pode ser o método selecionado, mas ocorrem mudanças físicas e químicas que são prejudiciais à integridade estrutural do fruto, as quais são menores quanto maior a velocidade de congelamento. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade do ácido ascórbico, das antocianinas e dos carotenoides totais de frutos de acerola congelados por método convencional (frio mecânico) a $-22,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e por métodos criogênicos, pela imersão em vapor de nitrogênio ($\text{N}_{2(v)}$) a $-180,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ e em nitrogênio líquido ($\text{N}_{2(l)}$) a $-196,2\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante o armazenamento a $-22,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 60 dias. Os teores de ácido ascórbico se mantiveram estáveis para todos os métodos de congelamento; no entanto, os criogênicos propiciaram maior retenção de carotenoides totais após 60 dias, pois os frutos de acerola apresentaram reduções de 7,64, 5,20 e 4,75%, para as amostras congeladas convencionalmente, por $\text{N}_{2(v)}$ e por $\text{N}_{2(l)}$, respectivamente. Até o 60º dia, o método convencional propiciou a maior redução (16,64%) no teor de antocianinas totais dos frutos. Essa maior degradação das antocianinas dos frutos congelados pelo método mecânico pode ter sido favorecida por uma ação enzimática, desencadeada pela formação dos cristais de gelo grandes e pontiagudos, e ruptura das estruturas celulares. Em decorrência da degradação dos pigmentos, foram observados decréscimos dos parâmetros a^* e b^* , e aumento de L^* das acerolas, para todos os métodos de congelamento, ao longo do armazenamento, sendo esses decréscimos maiores para as polpas dos frutos congelados convencionalmente. As amostras congeladas por criogenia apresentaram os menores valores de ΔE^* em relação ao padrão, ou seja, menor alteração na cor ao longo do armazenamento. A aplicação do congelamento criogênico antes do frio mecânico se mostrou vantajosa durante o armazenamento dos frutos de acerola, pois propiciou uma maior manutenção dos pigmentos responsáveis pela sua cor.

Palavras-chave: Congelamento; *Malpighia emarginata* D.C.; Ácido ascórbico; Carotenoides; Antocianinas.

■ Summary

When intending to maintain the original quality of the fruit, freezing may be the method selected, but physical and chemical changes occur that are detrimental to the structural integrity of the fruit, which are smaller the greater the velocity of freezing. The objective of this work was to evaluate the stability of the ascorbic acid, anthocyanins and carotenoids in acerola fruit frozen using the conventional method (mechanical cooling) at -22.1°C and using cryogenic methods by immersion in nitrogen vapor ($\text{N}_{2(\text{v})}$) at -180.9°C and liquid nitrogen ($\text{N}_{2(\text{l})}$) at -196.2°C , during storage at -22.1°C for 60 days. The levels of ascorbic acid remained stable for all the freezing methods used, but the cryogenic methods resulted in greater retention of the carotenoids after 60 days, showed reductions of 7.64, 5.20 and 4.75% for the samples frozen conventionally, in $\text{N}_{2(\text{v})}$ and in $\text{N}_{2(\text{l})}$, respectively. Up to the 60th day, the conventional method caused the greatest reduction (16.64%) in the total anthocyanins of the acerola fruits. This greater degradation of the anthocyanins in the fruit frozen by the mechanical method may have been favoured by enzymatic action, resulting from the formation of large, sharp ice crystals causing disruption of cell structures. Due to the degradation of pigments in the acerola fruit pulps, the parameters a^* and b^* decreased and the L^* value increased during storage for all the methods of freezing, but the changes were higher for the fruit pulp frozen conventionally. The samples frozen by nitrogen presented the lowest values for ΔE^* , i.e., less change in colour during storage. The application of cryogenic freezing before that of the mechanical cold proved advantageous in the storage of acerola fruit, propitiating greater maintenance of the pigments.

Key words: Freezing; *Malpighia emarginata* D.C.; Ascorbic acid; Carotenoids; Anthocyanins.

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

1 Introdução

A acerola (*Malpighia emarginata* D.C.) é uma fruta bastante apreciada por seu aroma e sua cor (BOULANGER e CROUZET, 2001), como também pelo seu alto teor de vitamina C, além de possuir na sua composição outros compostos bioativos, como os carotenoides e as antocianinas. Essa fruta já está incluída na pauta de exportação da fruticultura brasileira; entretanto, sua comercialização *in natura* é dificultada a grandes distâncias pela curta vida útil do fruto (YAMASHITA et al., 2006), pois os frutos, por serem perecíveis, deterioram em poucos dias. A composição química dos frutos de aceroleira depende da espécie, da localização do plantio, da fertilização, das condições do meio ambiente e do estágio de maturação dos frutos (LIMA et al., 2005).

A coloração vermelha forte é um fator importante na qualidade das acerolas e de seus produtos, sendo afetada pelo conteúdo total de antocianinas e sua distribuição. Como a maioria dos pigmentos naturais, as antocianinas apresentam instabilidade, sendo normalmente mais estáveis sob condições ácidas; porém, podem ser degradadas por qualquer mecanismo que leve à formação de compostos menos coloridos, compostos escuros e/ou insolúveis (JACKMAN e SMITH, 1992). Esta degradação pode ocorrer durante o processamento e/ou armazenamento do alimento. Os principais fatores que influenciam a estabilidade destes pigmentos são pH, temperatura, presença de oxigênio e enzimas, além da interação com outros componentes do alimento, como: ácido ascórbico, íons metálicos, açúcares e copigmentos (BOBBIO e BOBBIO, 2003; JACKMAN e SMITH, 1992).

Quando se deseja manter a qualidade original do fruto, o congelamento pode ser o método selecionado, mas ocorrem mudanças físicas e químicas que são prejudiciais à integridade estrutural do fruto (RESENDE et al., 2004). Uma das principais alterações observadas pelos produtores, processadores e distribuidores da acerola é a mudança indesejável na cor, que passa do vermelho para amarelo (SEMENSATO, 1997); tal fato pode ocorrer porque as antocianinas podem ser degradadas, com consequente alteração de cor.

A estabilidade dos carotenoides difere bastante nos alimentos, mesmo quando estes são submetidos a processamento e condições de estocagem idênticas, sendo a oxidação a principal causa de destruição dos carotenoides (LOPES et al., 2005). O processo de congelamento, especialmente o congelamento rápido, e a estocagem sob temperaturas de congelamento geralmente propiciam a retenção dos carotenoides nos alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

Considerando-se o rápido congelamento, diferentes métodos podem ser utilizados, dentre os quais, o criogênico, um congelamento ultrarrápido através da

utilização de líquidos criogênicos que têm se mostrado vantajoso em relação ao método mecânico, pois a rápida redução da temperatura permite uma melhor manutenção da qualidade do produto (GEORGE, 1997). Tal aspecto compensa a sua utilização, visto que líquidos criogênicos têm custo mais elevado do que sistemas mecânicos, pois o preço de líquidos criogênicos é superior e geralmente não se pode reutilizá-los (ORDÓÑEZ, 2005).

Congelar criogenicamente um produto antes de armazená-lo sob congelamento mecânico poderá trazer algumas vantagens, como: evitar perda de peso excessiva e pegajosidade no produto; possibilitar a variação da capacidade de produção de uma instalação, e aliviar o equipamento de congelamento mecânico, uma vez que o produto será armazenado já congelado (MADRID VICENTE et al., 1994).

Como se trata de um fruto de alta perecibilidade pós-colheita, torna-se necessário o estudo de métodos, como o congelamento criogênico, que permitam uma melhor conservação para ampliação e manutenção da acerola nos mercados importadores, preservando principalmente seus teores de ácido ascórbico e seus pigmentos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a estabilidade do ácido ascórbico, das antocianinas e dos carotenoides totais, e da coloração da polpa de acerolas congeladas pelos métodos mecânicos e criogênicos e armazenados sob congelamento mecânico.

2 Material e métodos

2.1 Material

Foram utilizadas acerolas *in natura*, classificados como maduros aqueles que apresentavam mais de 75% da casca com coloração vermelha (CARVALHO e MANICA, 1994), adquiridos no mês de maio de 2009 no Centro de Abastecimento da cidade de Aracaju-SE.

2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção e conservação das amostras

Os frutos foram inicialmente selecionados manualmente; em seguida, passaram por uma pré-lavagem com água potável corrente em abundância para retirada das impurezas macroscópicas. As acerolas foram sanitizadas por imersão em uma solução de hipoclorito de sódio a 30 ppm por 20 min e, então, novamente lavados com água potável para retirada do cloro. Os equipamentos e utensílios foram previamente lavados com água e detergente, sanitizados com solução de hipoclorito de sódio a 200 ppm por 30 min e novamente lavados com água para retirada do cloro (LOPES, 2005).

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

Uma parte dos frutos foi separada para as análises físicas, químicas e colorimétricas da amostra *in natura* e o restante, embalado para ser submetido aos diferentes métodos de congelamento. Nas embalagens de polietileno com dimensões de 16 x 4,5 cm, foram acondicionados sete frutos de acerola, sendo seladas e submetidas aos congelamentos: convencional por frio mecânico; criogênico por imersão em vapor de nitrogênio, $N_{2(v)}$, e criogênico por imersão em nitrogênio líquido, $N_{2(l)}$.

O congelamento convencional consistiu em armazenar as amostras em freezer vertical doméstico, com circulação de ar, à temperatura de $-22,1 \pm 1,0$ °C. As amostras criocongeladas à temperatura de $-180,9$ °C foram imersas com o auxílio de um cânister em botijão criogênico com capacidade de 20 L, contendo vapor de nitrogênio, e as criocongeladas à temperatura de $-196,2$ °C foram imersas no botijão contendo nitrogênio líquido. Os tempos médios totais de congelamento dos frutos de acerola por frio mecânico, por $N_{2(v)}$ e por $N_{2(l)}$ foram 3,5 h, 14 min e 4,5 min, respectivamente. Após criocongeladas, as amostras foram armazenadas em freezer vertical doméstico, com circulação de ar, à temperatura de $-22,1 \pm 1$ °C.

2.2.2 Caracterização da matéria-prima

2.2.2.1 Análises físicas

Foram escolhidos aleatoriamente 40 frutos de acerola a fim de caracterizar a matéria-prima utilizada neste estudo. As massas de matéria fresca de cada fruto inteiro foram determinadas com o auxílio de balança de precisão, marca Tecnal, modelo 210A, com precisão de 0,0001 g e capacidade para 210 g. As medidas relacionadas ao diâmetro (cm) e ao comprimento (cm) dos frutos foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital da marca Mitutoyo, com resolução de 0,01 mm e exatidão de 0,03 mm. Para a mensuração do diâmetro, uma das faces do paquímetro foi fixada numa reentrância formada pela união de dois lóbulos do fruto e a outra, na metade do lóbulo oposto, no sentido transversal. O comprimento foi medido fixando-se as duas faces do paquímetro em uma das reentrâncias no sentido longitudinal do fruto, tomando-se como base o seu pedúnculo.

O volume foi determinado por imersão de cada fruto em água contida em uma proveta graduada, sendo obtido pela diferença de altura da coluna líquida após a imersão do referido fruto. Através da relação entre o peso de cada fruto e o volume de água deslocado, foi obtido a densidade do fruto (g.cm^{-3}).

2.2.2.2 Análises químicas

O pH foi medido em potenciômetro da marca Tecnopon, modelo MPA-210, calibrado com soluções-

tampão nos pHs 4 e 7 a 20 °C (HOROWITZ, 1997). Os teores de sólidos solúveis foram determinados pela leitura direta dos graus Brix da amostra a 20 °C em refratômetro de bancada da marca Abbé. O teor de umidade foi baseado na determinação da perda de peso do produto submetido ao aquecimento a 105 °C, até peso constante (IAL, 2005). A determinação da acidez foi baseada na neutralização de ácidos e expressa em ácido málico (HOROWITZ, 1997).

A determinação de ácido ascórbico foi realizada pelo método padrão, nº 43.065, da AOAC (WILLIAMS, 1984), modificado por Benassi e Antunes (1988), no qual se substituiu o solvente extrator ácido metafosfórico por ácido oxálico. Os carotenoides totais foram avaliados pelo método proposto por Lichtenthaler (1987). Para a quantificação das antocianinas totais, os frutos foram homogeneizados com solução extratora (etanol 95%:HCl 1,5 N - 85:15 v/v) e estocados por 12 h a 4 °C. As amostras foram filtradas e os resíduos lavados exaustivamente com a solução extratora até a remoção completa dos pigmentos. A determinação das antocianinas foi efetuada pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti e Wrolstad (2001).

2.2.2.3 Cor instrumental

Como na leitura da coloração da superfície de frutos, em geral, se observa uma significativa variação de cor em um mesmo fruto, a determinação da cor foi realizada nas polpas dos frutos utilizando-se um colorímetro Minolta CR-10 (Konica Minolta Sensing, Inc.), que vem calibrado de fábrica. Esse colorímetro fornece os parâmetros L^* , que indica luminosidade (claro/escuro); a^* , que indica a cromaticidade no eixo da cor verde (-) para vermelha (+), e b^* , que indica a cromaticidade no eixo da cor azul (-) para amarela (+), do sistema CIELAB. A diferença total de cor (ΔE^*) foi calculada a partir dos valores médios de a^* e de b^* utilizando a Equação 1.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

na qual: Δ é a diferença entre cada parâmetro de cor da amostra padrão (*in natura*) e das amostras armazenadas nos diversos tempos.

Para o estudo da estabilidade dos frutos durante o armazenamento, com três repetições de amostras congeladas, foram realizadas as análises, em triplicata, de ácido ascórbico, antocianinas totais, carotenoides totais e cor instrumental após os diferentes métodos de congelamento e a cada 15 dias durante 60 dias de armazenamento.

2.2.2.4 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade, usando

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

o programa estatístico ASSISTAT 7.4 beta (SILVA e AZEVEDO, 2006).

■ 3 Resultados e Discussão

3.1 Caracterização física dos frutos de acerola

O valor médio das massas dos frutos foi $7,12 \pm 1,18$ g, atendendo, dessa forma, uma das exigências das indústrias de processamento: mínimo de 4 g/fruto (IBRAF, 1995). França e Narain (2003), caracterizando frutos de três matrizes de acerola em diferentes estádios de maturação e safras, encontraram uma variação de massa de 2,65 a 10,85 g.

Os resultados médios de diâmetro e de comprimento dos frutos de acerola deste estudo foram, respectivamente, $2,36 \pm 0,14$ cm e $2,02 \pm 0,14$ cm. A análise desses valores indica que os frutos são, em média, mais largos que altos, o que define um formato subgloboso.

O volume médio dos frutos de acerola foi $7,40 \pm 1,33$ cm³ e densidade média foi de $0,966 \pm 0,069$ g.cm⁻³. Freire et al. (2006), caracterizando fisicamente frutos de acerola cultivados em diferentes microrregiões do estado da Paraíba, verificaram uma variação no volume de 1,25 a 5,07 cm³ e, na densidade, de 0,87 a 2,50 g.cm⁻³.

3.2 Caracterização química dos frutos de acerola

O pH médio dos frutos de acerola foi $3,20 \pm 0,01$, estando esse valor dentro da faixa considerada normal para acerola no estágio de maturação "de vez" (frutos vermelhos com porção 30% amarelada) e de acordo com os encontrados por Asenjo e Moscoso (1950), pH de 3,1 a 3,3.

O resultado de acidez total titulável, $1,11 \pm 0,02$ mg de ácido málico.100 g⁻¹, está de acordo com o apresentado por Brunini et al. (2004) que, ao caracterizarem acerolas de diferentes regiões de cultivo, encontraram valores de acidez total titulável entre 0,504 e 1,112 g de ácido málico.

O teor de sólidos solúveis totais, $7,50 \pm 0,14$ °Brix, está dentro da faixa apresentada por Matsuura et al. (2001) para diferentes genótipos de frutos de acerola, 6,00 a 11,60 °Brix.

O valor médio de umidade dos frutos de acerola, $92,47 \pm 0,54\%$, está bem próximo ao apresentado por Maia et al. (2003), 92,85%, e de acordo com França e Narain (2003) que, caracterizando frutos de três matrizes de acerola, encontraram uma faixa de umidade entre 91,97 e 93,53%.

O teor de ácido ascórbico dos frutos de acerola *in natura* foi $1699,01 \pm 68,44$ mg de ácido ascórbico.100 g⁻¹, valor esse inferior ao encontrado por De

Rosso e Mercadante (2007), 1921,00, mas bem próximo ao apresentado por Yamashita et al. (2003), 1511,00.

Os frutos de acerola *in natura* apresentaram um teor médio de carotenoides totais de $347,52 \pm 1,23$ µg.100 g⁻¹, valor esse inferior ao apresentado por De Rosso e Mercadante (2005) que, ao avaliarem a composição de carotenoides de dois genótipos brasileiros de acerola, obtiveram os valores de carotenoides totais de 370,9 e 959,1 µg.100 g⁻¹ (colheita do ano 2003) e de 883,9 e 1881,3 µg.100 g⁻¹ (colheita do ano 2004).

O valor médio de antocianinas totais dos frutos de acerola *in natura* foi $50,73 \pm 0,96$ mg de cianidina 3-glicosídeo.100 g⁻¹, estando de acordo com Lima et al. (2000), que encontraram teores variando de 14,06 a 50,98 mg.100 g⁻¹ para diferentes seleções de acerola, e com Musser et al. (2004) que, caracterizando frutos de acerola do banco ativo de germoplasma no Estado de Pernambuco, apresentaram valores entre 3,8 e 47,4 mg.100 g⁻¹.

3.3 Estudo da estabilidade

3.3.1 Ácido ascórbico

Não foram verificadas diferenças significativas ($p > 0,05$) nos teores de ácido ascórbico dos frutos de acerola congelados por diferentes métodos e armazenados a $-22,1$ °C por 60 dias (Tabela 1). O método de congelamento não interferiu na estabilidade do teor de ácido ascórbico dos frutos de acerola durante o armazenamento e todas as amostras atenderam ao limite previsto para polpa de acerola pela Instrução Normativa Nº 01, que é de no mínimo 800 mg.100 g⁻¹ (BRASIL, 2000).

Sabe-se que países como Japão e Alemanha, principais mercados importadores de acerola, preferem frutas que ao longo do ano apresentem teores de vitamina C superiores a 1000 mg.100 g⁻¹ de polpa (GONZAGA NETO, 1999).

3.3.2 Carotenoides totais

De acordo com a Tabela 2, após os 60 dias de armazenamento a $-22,1$ °C, todas as amostras apresentaram reduções significativas nos teores de carotenoides totais em relação ao tempo inicial. Logo após o congelamento, as reduções desses pigmentos foram pequenas, mas significativas ($p \leq 0,05$) para todos os métodos, sendo estas de 4,43, 1,59 e 1,25% nas amostras congeladas convencionalmente, por imersão em $N_{2(v)}$ e por imersão em $N_{2(l)}$, respectivamente.

Observou-se que, no 60º dia de armazenamento, os métodos criogênicos diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) do congelamento convencional quanto ao teor de carotenoides totais (Tabela 2). No fim do tempo de armazenamento, os frutos de acerola apresentaram

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

reduções de 7,64, 5,20 e 4,75%, respectivamente, para as amostras congeladas convencionalmente, por imersão em $N_{2(v)}$ e por imersão em $N_{2(l)}$. Dessa forma, os métodos criogênicos propiciaram uma maior retenção desses pigmentos em relação ao frio mecânico.

3.3.3 Antocianinas totais

Pela Tabela 3, observa-se que o teor de antocianinas totais dos frutos de acerola decresceu significativamente ($p \leq 0,05$) logo após o congelamento convencional ($-22,1^\circ\text{C}$), havendo uma redução média de 4,32% em relação à polpa *in natura*, enquanto que para as amostras congeladas pelos métodos criogênicos por imersão em vapor de N_2 e em N_2 líquido, as reduções foram de 1,84 e 2,33%, respectivamente.

A amostra congelada pelo método convencional, após os 60 dias de armazenamento, foi a que apresentou a maior redução (16,64%) no teor de antocianinas totais.

De acordo com Araújo et al. (2007), como as antocianinas são pigmentos responsáveis pela coloração vermelha na acerola, é importante mensurá-las, pois o interesse comercial está principalmente na aparência, visto que os frutos de coloração amarelada serão provavelmente recusados por consumidores e mercados importadores.

Os frutos congelados pelos métodos criogênicos apresentaram uma maior retenção dos teores de antocianinas (91,90 e 89,44%, respectivamente, para vapor de nitrogênio e nitrogênio líquido) até o final do experimento. Essas alterações no teor de antocianinas totais foram observadas visualmente, pois os frutos congelados convencionalmente apresentaram amarelecimento superficial parcial, decorrente da perda desses pigmentos que mascaravam anteriormente os carotenoides, responsáveis pela cor amarela na acerola.

Essas reduções nos teores de pigmentos das amostras congeladas convencionalmente relacionam-se

Tabela 1. Valores de ácido ascórbico dos frutos de acerola submetidos a diferentes métodos de congelamento e armazenados por 60 dias a $-22,1^\circ\text{C}$.

Métodos de congelamento	Ácido ascórbico (mg.100 g ⁻¹)				
	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	15	30	45	60
Fruto <i>in natura</i>	1699,01 ^a ± 68,44	-	-	-	-
Convencional	1622,67 ^{aA} ± 68,83	1595,94 ^{aA} ± 67,82	1566,15 ^{aA} ± 67,42	1567,05 ^{aA} ± 52,95	1552,04 ^{aA} ± 58,75
Vapor de N_2	1645,75 ^{aA} ± 64,12	1626,68 ^{aA} ± 71,84	1638,96 ^{aA} ± 40,63	1637,80 ^{aA} ± 50,44	1636,48 ^{aA} ± 52,29
N_2 líquido	1654,31 ^{aA} ± 71,63	1620,53 ^{aA} ± 71,35	1640,70 ^{aA} ± 36,17	1635,90 ^{aA} ± 57,98	1637,61 ^{aA} ± 72,21

*Média ± Desvio Padrão. **Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tratamentos de congelamento no mesmo tempo e maiúsculas comparam médias, na mesma linha, para o mesmo tratamento de congelamento em diferentes tempos. Letras diferentes diferem significativamente, de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2. Valores de carotenoides totais dos frutos de acerola submetidos a diferentes métodos de congelamento e armazenados por 60 dias a $-22,1^\circ\text{C}$.

Métodos de congelamento	Carotenoides totais (µg.100 g ⁻¹)				
	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	15	30	45	60
Fruto <i>in natura</i>	347,52 ^a ± 1,23	-	-	-	-
Convencional	332,11 ^{cA} ± 1,19	330,07 ^{bAB} ± 1,45	326,96 ^{bB} ± 1,10	324,81 ^{cBC} ± 0,78	320,98 ^{bC} ± 1,63
Vapor de N_2	342,00 ^{bA} ± 1,65	339,58 ^{aA} ± 1,34	336,03 ^{aB} ± 1,19	332,59 ^{bC} ± 1,14	329,45 ^{aD} ± 0,79
N_2 líquido	343,16 ^{bA} ± 1,26	341,84 ^{aA} ± 1,06	338,41 ^{aAB} ± 1,00	335,24 ^{aB} ± 1,33	331,02 ^{aC} ± 1,27

*Média ± Desvio Padrão. **Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tratamentos de congelamento no mesmo tempo e maiúsculas comparam médias, na mesma linha, para o mesmo tratamento de congelamento em diferentes tempos. Letras diferentes diferem significativamente, de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores de antocianinas totais dos frutos de acerola submetidos a diferentes métodos de congelamento e armazenadas por 60 dias a $-22,1^\circ\text{C}$.

Métodos de congelamento	Antocianinas totais (mg de cianidina 3-glicosídeo.100 g ⁻¹)				
	Tempo de armazenamento (dias)				
	0	15	30	45	60
fruto <i>in natura</i>	50,73 ^a ± 0,96	-	-	-	-
Convencional	48,54 ^{bA} ± 1,67	46,17 ^{bAB} ± 2,55	45,24 ^{bB} ± 1,93	43,36 ^{bBC} ± 0,96	42,29 ^{bC} ± 0,96
Vapor de N_2	49,80 ^{aA} ± 0,96	49,48 ^{aA} ± 3,34	48,86 ^{aAB} ± 0,96	48,55 ^{aAB} ± 1,67	46,62 ^{aB} ± 2,55
N_2 líquido	49,55 ^{aA} ± 0,96	49,24 ^{aA} ± 1,93	48,73 ^{aA} ± 2,55	47,37 ^{aA} ± 0,96	45,37 ^{aB} ± 1,67

*Média ± Desvio Padrão. **Letras minúsculas comparam médias, na mesma coluna, entre os diferentes tratamentos de congelamento no mesmo tempo e maiúsculas comparam médias, na mesma linha, para o mesmo tratamento de congelamento em diferentes tempos. Letras diferentes diferem significativamente, de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade.

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

com o fato de que quando os frutos são congelados lentamente, os cristais de gelo formados são grandes e pontiagudos, localizando-se predominantemente nas regiões extracelulares. A formação destes cristais em tecidos vegetais pode levar a danos irreversíveis à parede celular, à lamela média e aos protoplastos (RESENDE, 1995). A formação de cristais intracelulares também destrói a organização interna das células, alterando o metabolismo (CHEFTEL et al., 1982), levando à desintegração celular e, conseqüentemente, à degradação de pigmentos (BARTOLOME et al., 1996). Estas observações podem ser consideradas, uma vez que as amostras não sofreram tratamento térmico antes do congelamento e, apesar das baixas taxas de reação estabelecidas na temperatura de conservação estudada, mudanças decorrentes da maior concentração de substratos nos microambientes lesados podem ocorrer.

Quando as membranas das organelas celulares são danificadas durante o congelamento, a liberação das enzimas nelas contidas e o contato com seus substratos, dos quais antes estavam separadas fisicamente, podem favorecer o início de algumas reações enzimáticas. Dessa forma, a maior degradação das antocianinas dos frutos congelados pelo método mecânico pode ter sido

favorecida por ação enzimática, desencadeada pela formação dos cristais de gelo grandes e pontiagudos, e pela ruptura das estruturas celulares. Segundo Francis (1989), as antocianinas podem ser degradadas por enzimas endógenas presentes nos tecidos das plantas, tais como glicosidases, polifenol oxidases e peroxidases. As glicosidases, também denominadas antocianases, hidrolisam as ligações ésteres com a liberação do açúcar e da aglicona, sendo essa última instável e podendo degradar espontaneamente, formando a chalcona incolor.

O uso de métodos criogênicos antes do método mecânico para o congelamento de frutos inteiros de acerola pode ser uma alternativa para a manutenção da qualidade desses produtos, reduzindo as alterações visuais por perdas de pigmentos, comumente observadas quando os mesmos são congelados diretamente apenas pelo método mecânico.

3.3.4 Cor instrumental

A polpa dos frutos *in natura* apresentou os seguintes valores para os parâmetros de cor: a^* 38,10; b^* 32,00 e L^* 31,70. De acordo com a Figura 1, observa-se que houve decréscimo dos parâmetros a^* e b^* , e aumento

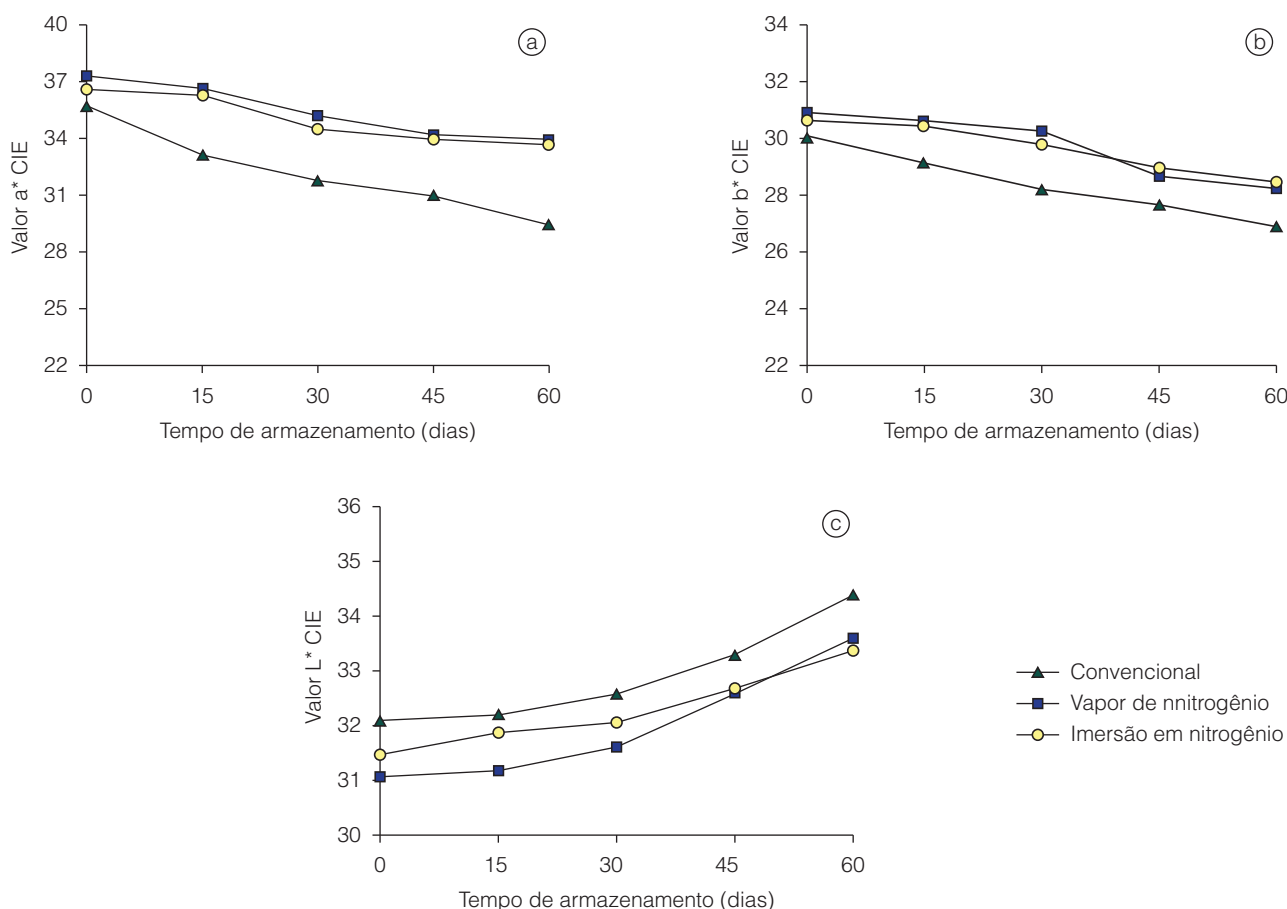


Figura 1. Alterações nos parâmetros de cor (a) a^* , (b) b^* e (c) L^* das polpas dos frutos de acerola congelados por diferentes métodos e armazenados a $-22,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 60 dias.

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicos

AQUINO, A. C. M. S. et al.

de L^* das polpas dos frutos de acerola, ao longo do tempo de armazenamento.

Verificaram-se alterações médias nos valores de a^* (22,57, 10,76 e 11,55%), de b^* (15,94, 11,56 e 10,94%) e L^* (8,52, 5,99 e 5,36) em relação à amostra padrão após 60 dias de armazenamento para as amostras congeladas convencionalmente, por $N_{2(v)}$ e por imersão em $N_{2(l)}$, respectivamente. Todas as polpas apresentaram valores positivos de a^* (cor vermelha) e b^* (cor amarela), que são indicativos de compostos coloridos presente nas amostras (LIMA et al., 2007), como os pigmentos antocianinas e carotenoides.

Em decorrência da degradação das antocianinas, os valores de a^* decresceram durante o armazenamento; como consequência, os valores de L^* aumentaram (Figura 1c). Comparando-se os resultados da avaliação cromática com a quantificação dos pigmentos, confirma-se a importância das coordenadas de cromaticidade a^* e b^* no estudo de estabilidade da acerola, visto que estes parâmetros estão diretamente relacionados aos teores de carotenoides e antocianinas totais presentes nesta fruta. Maiores decréscimos foram observados nos valores de a^* da polpa dos frutos congelados mecanicamente, que reafirmam as maiores reduções nos teores de antocianinas totais desses frutos discutidas anteriormente.

De acordo com a Tabela 4, observou-se que, com o tempo de armazenamento, houve um aumento estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) da diferença total de cor (ΔE^*) das polpas de acerola para todos os métodos de congelamento, sendo que as amostras congeladas por $N_{2(v)}$ e $N_{2(l)}$ apresentaram menores valores de ΔE^* , em relação ao padrão (*in natura*), ou seja, menor alteração na cor, confirmada pela maior retenção dos pigmentos nos frutos congelados por métodos criogênicos.

Tabela 4. Diferença total de cor (ΔE^*) em relação ao padrão da polpa dos frutos de acerola congelados por diferentes métodos e armazenados por 60 dias a $-22,1^\circ\text{C}$.

Tempo de armazenamento (dias)	Métodos de congelamento		
	Convencional	Vapor de N_2	N_2 líquido
0	$3,09 \pm 0,06^a$	$1,41 \pm 0,04^a$	$1,99 \pm 0,04^a$
15	$5,75 \pm 0,03^b$	$1,97 \pm 0,08^b$	$2,35 \pm 0,06^b$
30	$7,41 \pm 0,02^c$	$3,36 \pm 0,06^c$	$4,24 \pm 0,04^c$
45	$8,45 \pm 0,06^d$	$5,19 \pm 0,07^d$	$5,18 \pm 0,08^d$
60	$10,36 \pm 0,05^e$	$5,84 \pm 0,04^d$	$5,87 \pm 0,05^d$

*Média \pm Desvio Padrão. **Médias com expoentes diferentes em uma mesma coluna indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

4 Conclusões

Os frutos de acerola congelados pelos diferentes métodos mantiveram sua concentração de ácido ascórbico estável, sendo que os métodos criogênicos propiciaram uma maior retenção dos carotenoides totais e das antocianinas totais dos frutos em relação

ao método convencional; esses ainda apresentaram os menores valores de ΔE^* em relação ao padrão, ou seja, menor alteração de cor. A aplicação do congelamento criogênico antes do frio mecânico se mostrou vantajosa, pois propiciou uma maior manutenção dos pigmentos responsáveis pela cor dos frutos de acerola durante o armazenamento a $-22,1^\circ\text{C}$ por 60 dias.

Agradecimentos

À Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC-SE), pela concessão da bolsa.

Referências

- ARAÚJO, P. G. L.; FIGUEIREDO, R. W.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; PAIVA, J. R. Beta-caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, 2007.
- ASENJO, C. F.; MOSCOSO, C. G. Ascorbic acid content and other characteristics of the West Indian Cherry. **Food Research**, Chicago, v. 15, n. 2, p. 103-106, 1950.
- BARTOLOME, A. P.; RUPEREZ, P.; FUSTER, C. Freezing rate and frozen storage effects on color and sensory characteristics of pineapple fruit slices. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, n. 1, p. 154-160, 1996.
- BENASSI, M. T.; ANTUNES, A. J. A comparison of metaphosphoric and oxalic acids as extractants solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba, v. 31, n. 4, p. 507-513, 1988.
- BOBBIO, G. O.; BOBBIO, P. A. **Química do Processamento de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: Varela, 2003. cap. 6, p. 224-226.
- BOULANGER, R.; CROUZET, J. Identification of the aroma components of acerola (*Malpighia glabra* L.): free and bound flavour compounds. **Food Chemistry**, Washington, v. 74, p. 209-216, 2001.
- BRASIL. Instrução Normativa no 01, de 7 de janeiro de 2000. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2000. Anexo II.
- BRUNINI, M. A.; MACEDO, N. B.; COELHO, C. V.; SIQUEIRA, G. F. Caracterização física e química de acerolas provenientes de diferentes regiões de cultivo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 486-489, 2004.
- CARVALHO, R. I. N.; MANICA, I. Influência de estádios de maturação e condições de armazenamento na conservação da acerola (*Malpighia glabra* L.). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 681-688, 1994.

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicosAQUINO, A. C. M. S. *et al.*

CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL, H.; BESANÇON, L. **Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1982. v. 2.

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid composition of two Brazilian genotypes of acerola (*Malpighia puniceifolia* L.) from two harvests. **Food Research International**, Toronto, v. 38, n. 8-9, p. 1073-1077, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2005.02.023>

DE ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. The high ascorbic acid content is the main cause of the low stability of anthocyanin extracts from acerola. **Food Chemistry**, Washington, v. 103, n. 3, p. 935-943, 2007.

FRANÇA, V. C.; NARAIN, N. Caracterização química dos frutos de três matrizes de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 2, p. 157-160, 2003.

FRANCIS, F. J. Food colorants anthocyanins. **CRC Critical Review in Food Science and Nutrition**, v. 28, n. 4, p. 273-314, 1989. PMID:2690857. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398909527503>

FREIRE, J. L. O.; LIMA, A. N.; SANTOS, F. G. B.; MARINUS, J. V. M. L. Características físicas de frutos de acerola cultivada em pomares de diferentes microrregiões do estado da Paraíba. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 27, n. 2, p. 105-110, 2006.

GEORGE, M. R. Freezing systems. In: **QUALITY in Frozen Food**. New York: Chapman & Hall, 1997. p. 3-9.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001. <http://dx.doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>

GONZAGA NETO, L. Melhoramento genético da aceroleira na Embrapa Semi-Árido. In: QUEIRÓZ, M. A.; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.) **Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

HOROWITZ, W. (Ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 1997. 1298 p.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ - IAL. **Métodos Físico-Químicos para Análises de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 1018 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS - IBRAF. **Soluções Fruta a Fruta: Acerola**. São Paulo: IBRAF, 1995. 59 p.

JACKMAN, R. L.; SMITH, J. L. Anthocyanins and betalains. In: HENDRY, G. A. F.; HOUGHTON, J. D. **Natural Food Colorants**. New York, USA: AVI, 1992.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: PACKER, L.; DOUCE, R.

(Ed). **Methods in Enzymology**. London: Academic Press, 1987. p. 350-381. v. 148.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; GUERRA, N. B. Correlação entre o Teor de Antocianinas e Caracterização Cromática de Polpas de Diferentes Genótipos de Aceroleira. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 10, n. 1, p. 51-55, 2007.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. Flavonóides em seleções de acerola (*Malpighia* sp L.). 1- Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 6, p. 1066-1064, 2000.

LIMA, V. L. A. G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, London, v. 90, n. 4, p. 565-568, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.014>

LOPES, A. S. **Pitanga e Acerola: Estudo de Processamento, Estabilidade e Formulação de Néctar Misto**. 2005. 193 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)–Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

LOPES, A. S.; MATTIETTO, R. A.; MENEZES, H. C. Estabilidade da polpa de pitanga sob congelamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 553-559, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612005000300026>

MADRID VICENTE, A.; GOMES-PASTRANA RUBIO, J. M.; SANTIAGO REGIDOR, F.; MADRID VICENTE, J. M. **Refrigeración, Congelación y Envasado de los Alimentos**. Madrid: Iragra, 1994. 277 p.

MAIA, G. A.; RITTER, U. G.; FIGUEIREDO, R. W.; OLIVEIRA, G. S. F.; GASPAR JÚNIOR, J. C.; MONTEIRO, J. C. S. Obtenção e avaliação de bebida de baixa caloria à base de acerola (*Malpighia emarginata* D.C.). **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 34, n. 2, p. 233-240, 2003.

MATSUURA, F. C. A. U.; CARDOSO, R. L.; FOLEGATTI, M. I. S.; OLIVEIRA, J. R. P.; OLIVEIRA, J. A. B.; SANTOS, D. B. Avaliações físico-químicas em frutos de diferentes genótipos de acerola (*Malpighia puniceifolia* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 602-606, 2001.

MUSSER, R. S.; LEMOS, M. A.; LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LEDERMAN, I. E.; SANTOS, V. F. Características físico-químicas de acerola do banco ativo de germoplasma em Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 556-561, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612004000400013>

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de Alimentos: Componentes dos Alimentos e Processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. cap. 10, p. 179.

RESENDE, J. V. **Redução de Danos de Congelamento em Frutos de Melão (*Cucumis Melo* L. *Inodorus*) Utilizando Substâncias Crioprotetoras de Concentrações e Origens**

Estabilidade de ácido ascórbico, carotenoides e antocianinas de frutos de acerola congelados por métodos criogênicosAQUINO, A. C. M. S. *et al.*

Diversas. 1995. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

RESENDE, J. V.; CARNEIRO, C. S.; CAL-VIDAL, J. Crioproteção de frutos de abacaxis submetidos a congelamento com ar estático. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 1, p.31-45, 2004.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A Guide to Carotenoid Analysis in Foods**. Estados Unidos: ILSI Press, Estados Unidos, 1999. 64 p.

SEMENSATO, L. R. **Caracterização Físico-Química de Frutos Genótipos de Acerola (*Malpighia* sp.), Cultivados em Anápolis-GO, Processamento e Estabilidade de seus Produtos**. 1997. 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Federal de Goiânia, Goiânia, 1997.

SILVA, F. A. S.; AZEVEDO, C. A. V. A new version of the ASSISTAT – Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON

COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., Orlando. **Proceedings...** Orlando, USA: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

WILLIAMS, S. (Ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 14. ed. Arlington: AOAC, 1984. 1141 p.

YAMASHITA, F.; BENASSI, M. T.; TONZAR, A. C.; MORIYA, S.; FERNANDES, J. G. Produtos de acerola: estudo da estabilidade de vitamina C. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 92-94, 2003.

YAMASHITA, F.; NAKAGAWA, A.; VEIGA, G. F.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Embalagem ativa para frutos de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p. 95-100, 2006.